

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan Ikan Gabus

2.1.1 Deskripsi Ikan Gabus

Ikan gabus adalah sejenis ikan predator yang hidup di air tawar dan memakan cacing, katak, anak-anak ikan, udang, ketam, dan sebagainya. Oleh karena itu ikan ini digolongkan sebagai ikan karnivor (Ghufran dan Kordi, 2010). Daerah penyebaran ikan gabus di Indonesia antara lain di Sumatera, Kalimantan, Jawa, Sulawesi, dan Papua dengan nama yang berbeda sesuai dengan daerah dimana ikan tersebut ditemukan (Listyanto dan Andriyanto, 2009). Sedangkan menurut Courtenay *and* Williams, 2004, penyebaran ikan gabus meliputi Pakistan, India, Nepal, Sri Lanka, Bangladesh, Myanmar, Thailand, Cambodia, China Malaysia, Sumatra, Borneo, Sabah, Jawa Barat, Vietnam, dan Laos. Di Indonesia, ikan gabus dikenal dengan nama lain seperti ikan bocek (Riau), ikan haruan (Kalimantan), ikan kutuk (Jawa), ikan kanjilo (Makassar), ikan bale bolong/bale salo (Bugis), ikan gastor (Sentani, Papua) (Asfar dkk., 2014), dan lain-lain. Ikan ini juga dikenal dengan nama inggrisnya *Chevron snakehead* atau *Stripped snakehead* (Courtenay dan Williams 2004). Secara taksonomi ikan gabus diklasifikasikan sebagai berikut (Pillay *and* Kutty, 2005; Starnes, 1996):

Kingdom	: <i>Animalia</i>
Subkingdom	: <i>Bilateria</i>
Filum	: <i>Chordata</i>
Subfilum	: <i>Vertebrata</i>
Superkelas	: <i>Osteichthyes</i>
Kelas	: <i>Actinopterygii</i>
Subkelas	: <i>Neopterygii</i>
Divisi	: <i>Teleostei</i>
Superorder	: <i>Acanthopterygii</i>
Order	: <i>Perciformes</i>
Suborder	: <i>Channoidei</i>
Keluarga	: <i>Channidae</i>

Marga : *Channa*
 Jenis : *Channa striatus*



Gambar 2.1 Tubuh Memanjang Ikan Gabus (Ghufran dan Kordi, 2010; Bhat *et al.*, 2014)

Ikan gabus juga dikenal dengan nama ilmiah *Channa striata* atau *Ophiocephalus striatus* (Courtenay dan Williams 2004). Ikan gabus memiliki tubuh bulat panjang yang semakin kebelakang akan semakin pipih. Tubuhnya ditutupi oleh sisik yang berwarna hitam dengan sedikit belang pada bagian punggung, dan perutnya berwarna putih. Ikan ini berkepala besar agak gepeng yang mirip dengan kepala ular, sehingga dinamakan *snakehead* atau “si kepala ular” (Ghufran dan Kordi, 2010).



Gambar 2.2 Variasi Warna Ikan Gabus Pada Fase Perkembangannya (Bhat *et al.*, 2014): a. Anakan / Telur yang baru menetas; b. Benih; c. Ikan kecil; d. Ikan dewasa

Ikan gabus mampu hidup pada perairan yang minim oksigen karena mampu mengambil oksigen dari udara dengan cara menyembulkan kepalanya di permukaan air. Alat pernapasan tambahan pada ikan gabus disebut *diverticula*, yang merupakan tulang rawan yang terletak pada daerah faring. Kemampuan lainnya adalah ikan gabus dapat berjalan dengan menggunakan sirip dadanya di atas tanah dan dapat hidup didalam lumpur. Ikan gabus yang dipelihara dapat tumbuh hingga mencapai ukuran rata-rata 1kg/ekor. Di perairan umum, ikan gabus memijah pada musim hujan dengan membuat sarang di tepi-tepi perairan. Anak-anak ikan gabus bergerombol dan selalu dijaga oleh induknya. Benih ini menempati bagian perairan yang agak dalam (Ghufran dan Kordi, 2010).

Ikan gabus yang selama ini digunakan dalam pengobatan adalah ikan gabus liar yang ditangkap dialam. Ini karena ikan gabus liar mengandung albumin dan protein yang tinggi. Ikan gabus budidaya dianggap tidak terlalu baik dalam pengobatan karena kandungan albumin dan proteinnya yang rendah (Ghufran dan Kordi, 2010).

2.1.2 Kandungan Ikan gabus

Ikan gabus mengandung albumin yang tidak dimiliki oleh ikan lainnya seperti ikan lele, ikan gurami, ikan nila, ikan emas, dan sebagainya. Kadar albumin ikan gabus dapat mencapai 6,22% atau sebesar 62,24 g/kg (Yuniarti dkk., 2013). Kandungan protein ikan gabus terdiri dari asam amino penting, baik asam amino esensial yaitu isoleusina, leusina, lisina, metionina, fenilalanina, treonina, triptofan, dan valina; maupun asam amino non esensial yaitu asam glutamate, arginin, dan asam aspartat. Ikan gabus juga mengandung asam lemak esensial yang cukup tinggi dan kaya akan mineral, terutama kalsium, zat besi, zink, dan beberapa vitamin yang sangat baik untuk kesehatan (Asfar dkk., 2014). Berdasarkan hasil uji yang telah dilakukan di laboratorium Kimia Universitas Brawijaya tentang komposisi gizi dari residu daging ekstraksi albumin ikan gabus didapatkan hasil berupa kadar albumin sebesar 4,26%; kadar protein 17,30%; kadar lemak 1,75%; kadar abu 1,80% dan kadar air sebesar 41,27% (Sulthoniyah dkk., 2013).

2.1.3 Manfaat Ikan gabus

Ikan gabus sangat bermanfaat bagi kesehatan karena mengandung asam lemak esensial dan mineral yang tinggi. Ikan gabus juga berfungsi sebagai sumber protein dalam asupan makanan kita sehari-hari karena kandungan proteinnya yang tinggi. Ikan ini mengandung semua asam amino esensial yang tidak dapat disintesis dalam tubuh, sehingga dengan mengonsumsi ikan gabus dapat membantu memenuhi kebutuhan asam amino esensial dalam tubuh kita. Ikan gabus juga mengandung asam amino non esensial yang sangat penting dalam membantu proses penyembuhan luka (Asfar dkk., 2014).

Manfaat ikan gabus yang telah diketahui melalui beberapa penelitian diantaranya adalah ekstrak ikan gabus dapat membantu menurunkan kadar glukosa darah pada mencit hiperglikemik sebanyak 34,42% pada dosis 0,14846 ml/hari (Aisyatussoffi dan Abdulgani 2013). Ekstrak ikan gabus yang diolah menjadi biskuit dapat mencegah malnutrisi karena mengandung energi, protein, zink, dan zat besi. Ekstrak ikan gabus juga dapat meningkatkan sistem imun pada anak-anak dibawah lima tahun, karena dapat meningkatkan igG yang merupakan komponen utama dari serum imunoglobulin (Sari dkk., 2014). Selain itu, ekstrak ikan gabus dapat berfungsi sebagai antioksidan pada tikus yang keracunan kadmium dengan cara menurunkan produksi lipid peroksidase yang dapat diketahui dengan menurunnya kadar *malondialdehyde* (MDA) dalam hati. MDA merupakan indikasi adanya kerusakan akibat oksidasi (Suhartono dkk., 2013). Penelitian lain juga menyebutkan bahwa ikan gabus memiliki khasiat sebagai anti inflamasi, membantu menyembuhkan luka, agregasi platelet, antimikroba ringan, dan antijamur (Jais, 2007).

2.1.4 Pengolahan Ikan gabus

Penggunaan ikan gabus dalam pengobatan tradisional adalah dengan cara dikonsumsi langsung setelah dimasak, baik dibakar, digoreng, dan lain-lain. Pembuatan albumin dari ikan gabus secara praktis dapat dilakukan sendiri, yaitu dengan cara direbus atau dikukus, kemudian air rebusan diminum (Ghufran dan Kordi, 2010). Rasanya tidak enak dan berbau amis sehingga tidak semua orang suka (Yuniarti dkk., 2013).

Untuk mengatasi hal tersebut, ada beberapa contoh produk olahan ikan gabus seperti abon, biskuit, amplang, nugget, otak-otak, bakso, dan empek-empek. Ikan gabus juga dapat diolah menjadi masakan seperti Pallu Kacci (Bugis-Makassar), Pakumpe (Makassar), Nasu Parape (Bugis), Woku (Gorontalo), Pepes, dan lain-lain. Perlu diperhatikan bahwa pengolahan ikan gabus harus dilakukan dengan tepat agar diperoleh manfaatnya. Ikan gabus yang diolah dalam bentuk konsentrat protein atau dalam bentuk kapsul akan memberikan kemudahan konsumsi bagi pasien atau orang yang tidak menyukai mengkonsumsi ikan gabus segar. Namun, pengolahan dengan cara ini dapat menyebabkan hilangnya atau berkurangnya beberapa kandungan penting seperti asam lemak dan mineral, sehingga akan lebih baik apabila dapat mengolah dan mengkonsumsi ikan gabus dalam bentuk segar (Asfar dkk., 2014).

Hal-hal penting yang harus diperhatikan dalam pembuatan ekstrak ikan gabus adalah kualitas daging ikan gabus, ukuran potongan daging yang diekstraksi, dan suhu ekstraksi (Zakaria, 2015). Parameter mutu ikan dapat dilihat pada tabel dibawah ini:

Tabel II.1 Parameter Mutu Ikan (Buckle dkk., 2007)

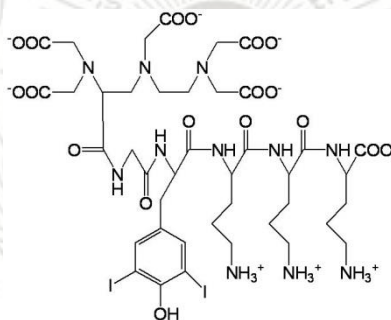
Parameter	Ikan Bermutu Baik	Ikan Mengalami Kerusakan
Mata	Jernih dan cembung	Keruh dan masuk ke dalam
Insang	Merah dan tidak busuk	Merah/coklat gelap dan busuk
Lendir	Encer dan aroma segar	Kental dan aroma busuk
Sisik/kulit	Kuat dan mengilat	Mudah dicabut dan kusam
Kelenturan/kenyalan	Lentur atau kenyal	Lembek dan berair
Aroma	Segar	Busuk

Ekstrak yang dihasilkan ikan gabus beraroma amis dan relatif sulit dihilangkan atau dinetralisasi. Aroma ini disebabkan oleh terbentuknya trimetil amin oksida (TMAO) yang mempunyai sifat larut air, sehingga senyawa ini akan ikut terekstraksi dalam proses ekstraksi (Rahayu dkk., 1992).

2.2 Tinjauan Albumin

2.2.1 Deskripsi Albumin

Albumin merupakan protein utama dalam plasma manusia dan menyusun sekitar 60% dari total protein plasma (Murray *et al*, 2003). Dalam keadaan seimbang, laju sintesis albumin, degradasi, dan pengeluaran dari tubuh juga akan seimbang (Pramana dkk., 2013). Pada orang dewasa sehat, sintesis albumin terjadi di *polysome* yang terikat pada retikulum endoplasma di hepatosit dengan kecepatan pembentukan 9-12 gram/hari (Evans, 2002). Penelitian lain menyebutkan bahwa sintesis albumin hanya terjadi di hepar dengan kecepatan pembentukan \pm 12-25 gram/hari (Hasan dan Indra 2008). Pada keadaan normal hanya 20-30% hepatosit yang memproduksi albumin. Akan tetapi laju produksi ini bervariasi tergantung keadaan penyakit dan laju nutrisi karena albumin hanya dibentuk pada lingkungan osmotik, hormonal dan nutrisi yang cocok (Evans, 2002).



Gambar 2.3 Struktur Molekul Albumin (Campbell *et al.*, 2004)

Degradasi albumin total pada orang dewasa dengan berat 70 kg adalah sekitar 14 gram/hari atau 5% dari pertukaran protein seluruh tubuh per hari. Albumin dipecah di otot dan kulit sebesar 40-60%, di hati 15%, di ginjal sekitar 10% dan 10% sisanya meresap ke dalam saluran cerna lewat dinding lambung. Produk degradasi akhir berupa asam amino bebas. Pada orang sehat kehilangan albumin lewat *urine* biasanya tidak melebihi 10-20 mg/hari karena hampir semua yang melewati membran glomerulus akan diserap kembali (Hasan dan Indra 2008).

Volume distribusi obat yang terikat pada albumin dapat meningkat pada kondisi hipoalbuminemia sehingga mengurangi efektivitasnya. Albumin mengikat obat-obat asam dan netral (misalnya steroid) serta bilirubin dan asam lemak.

Albumin mempunyai 2 tempat ikatan, yaitu *Site I* (disebut juga dengan *Warfarin site*) mengikat warfarin, fenilbutazon, fenitoin, asam valproat, tolbutamid, sulfonamide, dan bilirubin. Sedangkan *Site II* (*Diazepam site*) mengikat diazepam dan benzodiazepine lainnya, asam-asam karboksilat (kebanyakan NSAID), serta penisilin dan derivatnya. Asam-asam lemak memiliki tempat ikatan yang khusus pada albumin (Zakaria, 2015).

Seseorang dapat dikatakan mengalami hipoalbuminemia apabila konsentrasi albumin plasma $\leq 2,5$ g/dL (Pramana dkk., 2013). Penyebab hipoalbuminemia adalah sekunder dari gangguan sintesis protein pada malnutrisi kalori, penyakit hati kronis atau pada keadaan proteinuria yang meningkat misalnya pada *protein losing enteropathy*, luka bakar atau iatrogenik (Praptiwi dkk., 2012).

2.2.2 Manfaat Albumin

Albumin merupakan protein plasma yang memiliki beberapa fungsi. Pada vascular, albumin berfungsi untuk mempertahankan tekanan osmotik dan keutuhan mikrovaskular. Albumin juga berfungsi untuk memfasilitasi transport zat; seperti mengangkut hormon (steroids, thyroxine), asam lemak, garam empedu, bilirubin, ion Ca^{2+} , Mg^{2+} , dan metal lainnya (tembaga, zinc), enzim, asam amino, obat-obatan (warfarin, diazepam), dan fosfolipid. Albumin mampu mengikat dan mengangkut zat-zat tersebut karena adanya permukaan yang bermuatan dan banyaknya ikatan yang spesifik, baik ionik maupun hidrofobik. Albumin juga berfungsi sebagai penangkal radikal bebas (Hankins, 2006; Boldt, 2010). Pada metabolisme, albumin berfungsi untuk mengatur keseimbangan asam-basa, sebagai anti oksidan dan anti koagulan (Boldt, 2010).

Berdasarkan bukti klinis, albumin juga dapat diindikasikan pada kondisi akut maupun kronis. Kondisi tersebut antara lain yaitu pada parasentesis, *spontaneous bacterial peritonitis*, syok hemoragik (hanya pada kondisi kurangnya respon terhadap kristaloid atau koloid, dan kontraindikasi pada penggunaan koloid non-protein), serta transplantasi organ yang berfungsi untuk mengontrol ascites dan edema perifer pada *post* operasi setelah transplantasi hati dan untuk menggantikan hilangnya cairan ascites dari *drainage tubes* jika albumin $< 2,5$ g/dL dengan hematokrit $> 30\%$ (Liumbruno *et al.*, 2009).

2.2.3 Pengukuran Albumin

Isolasi senyawa albumin telah banyak dilakukan oleh para peneliti. Salah satunya adalah hasil penelitian Sari dkk., 2015, yang meneliti kadar albumin dalam ikan gabus dengan menggunakan reagen biuret. Hasil ekstraksi ikan gabus dilarutkan kedalam larutan *buffer*, lalu ditambahkan dengan natrium sulfit 25% dan eter untuk memisahkan albumin dengan protein plasma lainnya seperti globulin, dan lain-lain. Larutan yang terbentuk akan terpisah menjadi bagian atas dan bawah. Larutan bagian atas yang terdiri dari protein dan eter dibuang, sehingga yang tersisa adalah larutan bagian bawah yang mengandung albumin. Larutan tersebut kemudian ditambahkan aquadest dan reagen biuret. Reaksi positif ditunjukkan apabila terbentuk warna merah violet atau biru violet. Jika menunjukkan hasil positif, maka larutan dapat dianalisa dengan menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis. Penelitian yang sama dilakukan oleh Nugroho, 2013, dengan menggunakan reagen yang berbeda yaitu reagen *Bromocresol Green* (BCG). Hasil ekstraksi ikan gabus merupakan ekstrak kasar albumin, yang kemudian akan dimurnikan menggunakan kolom filtrasi gel dengan bahan sephadex G-75. Setelah itu albumin dapat diuji kadarnya menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis dengan reagen BCG. BCG dengan albumin di dalam buffer sitrat akan memberikan warna kompleks sehingga dapat dibaca absorbansinya.

2.3 Tinjauan Kapsul

2.3.1 Definisi Kapsul

Kata *capsule* berasal dari bahasa latin “*capsula*” yang berarti kotak kecil atau wadah. Kata *capsule* digunakan untuk mendeskripsikan bahan-bahan alami dan buatan manusia pada bidang keilmuan. Pada bidang farmasi, kata kapsul digunakan untuk mendeskripsikan sediaan padat yang terdiri dari wadah yang bisanya terbuat dari gelatin, dimana didalamnya berisi bahan-bahan obat (Mallik *et al.*, 2013).

Menurut Farmakope Indonesia edisi V kapsul adalah sediaan padat yang terdiri dari obat dalam cangkang keras atau lunak yang dapat larut. Kapsul juga dapat didefinisikan sebagai bentuk sediaan padat, dimana satu macam bahan obat

atau lebih dan bahan *inert* lainnya dimasukkan kedalam cangkang atau wadah kecil yang umumnya dibuat dari gelatin yang sesuai (Ansel, 2011).

Beberapa keuntungan sediaan kapsul diantaranya adalah (Bhatt *and* Agrawal, 2007) :

- a. Dapat menutupi rasa dan bau yang tidak enak dari bahan obat dan mudah untuk diberikan.
- b. Memiliki penampilan yang menarik, ekonomis, dan mudah untuk dibawa.
- c. Kapsul akan licin ketika basah dan oleh karena itu mudah untuk ditelan dengan air.
- d. Dibandingkan dengan tablet, bahan tambahan yang dibutuhkan lebih sedikit.
- e. Cangkang kapsul secara fisiologis merupakan bahan *inert* sehingga mudah dan cepat untuk dicerna dalam saluran pencernaan.
- f. Cangkang kapsul dapat dibuat *opaque* atau tidak tembus cahaya (dengan titanium dioksida) atau diwarnai, untuk memberikan perlindungan dari cahaya.

Kerugian sediaan kapsul diantaranya adalah (Bhatt *and* Agrawal, 2007) :

- a. Obat-obatan yang bersifat higroskopis dapat menyerap air dari cangkang kapsul dan menyebabkan cangkang kapsul menjadi rapuh, sehingga tidak cocok untuk diisikan kedalam kapsul.
- b. Larutan terkonsentrasi yang membutuhkan pengenceran sebelumnya tidak cocok untuk kapsul, karena jika diberikan seperti itu dapat mengiritasi lambung.

Cangkang kapsul umumnya terbuat dari gelatin; tetapi dapat juga terbuat dari pati atau bahan lain yang sesuai. Berdasarkan konsistensinya kapsul dapat dibagi menjadi kapsul cangkang keras dan kapsul cangkang lunak. Ukuran cangkang kapsul keras bervariasi dari nomor paling kecil (5) sampai nomor paling besar (000), kecuali ukuran cangkang untuk hewan. Umumnya ukuran nomor 00 adalah ukuran terbesar yang dapat diberikan kepada pasien. Ada juga kapsul gelatin keras ukuran 0 dengan bentuk memanjang (dikenal sebagai ukuran OE), yang memberikan kapasitas isi lebih besar tanpa peningkatan diameter (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2014).

Kapsul cangkang keras biasanya terbuat dari gelatin berkekuatan gel relatif tinggi. Berbagai jenis gelatin dapat digunakan, tetapi gelatin dari campuran kulit atau tulang sering digunakan untuk mengoptimalkan kejernihan dan kekerasan cangkang. Kapsul cangkang keras dapat juga dibuat dari pati atau bahan lain yang sesuai. Kapsul cangkang keras biasanya diisi dengan serbuk, butiran atau granul. Butiran gula inert dapat dilapisi dengan komposisi bahan aktif dan penyalut yang memberikan profil lepas lambat atau bersifat enterik (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2014).

2.3.2 Keseragaman Bobot kapsul

Farmakope Indonesia Edisi III menjelaskan keseragaman bobot untuk kapsul yang berisi obat kering dan cair atau pasta dilakukan dengan cara yang berbeda. Untuk kapsul yang berisi obat kering, dilakukan dengan cara menimbang 20 kapsul. Kemudian ditimbang lagi kapsul satu per satu, dikeluarkan isi semua kapsul lalu ditimbang seluruh bagian cangkang kapsul. Hitung bobot isi kapsul dan bobot rata-rata tiap isi kapsul. Perbedaan dalam persen bobot isi tiap kapsul terhadap bobot rata-rata tiap isi kapsul tidak boleh lebih dari yang ditetapkan pada kolom A dan untuk setiap 2 kapsul tidak boleh lebih dari yang ditetapkan kolom B.

Tabel II.2 Persyaratan Keseragaman Bobot Kapsul (Farmakope Indonesia Edisi Ketiga)

Bobot Rata-rata Isi Kapsul	Perbedaan Bobot Isi Kapsul dalam Persen	
	A	B
120 mg atau kurang	$\pm 10\%$	$\pm 20\%$
Lebih dari 120 mg	$\pm 7,5 \%$	$\pm 15\%$

Untuk kapsul yang berisi obat cair atau pasta, keseragaman bobot dilakukan dengan cara menimbang 10 kapsul. Kemudian ditimbang lagi kapsul satu per satu, dikeluarkan isi semua kapsul lalu cuci cangkang kapsul dengan eter pekat. Buang cairan cucian dan biarkan hingga tidak berbau eter, lalu ditimbang seluruh bagian cangkang kapsul. Hitung bobot isi kapsul dan bobot rata-rata tiap kapsul. Perbedaan dalam persen bobot isi tiap kapsul terhadap bobot rata-rata tiap isi kapsul tidak boleh lebih dari 7,5 %.

Dalam Farmakope Indonesia edisi kelima, keseragaman bobot kapsul keras dilakukan dengan cara menimbang dengan seksama 10 kapsul satu per satu, kemudian diberi identitas pada masing-masing kapsul. Dikeluarkan isi masing-masing kapsul dengan cara yang sesuai, lalu ditimbang dengan seksama tiap cangkang kapsul kosong. Dihitung bobot bersih dari isi tiap kapsul dengan cara mengurangkan bobot cangkang kapsul dari masing-masing bobot bruto.

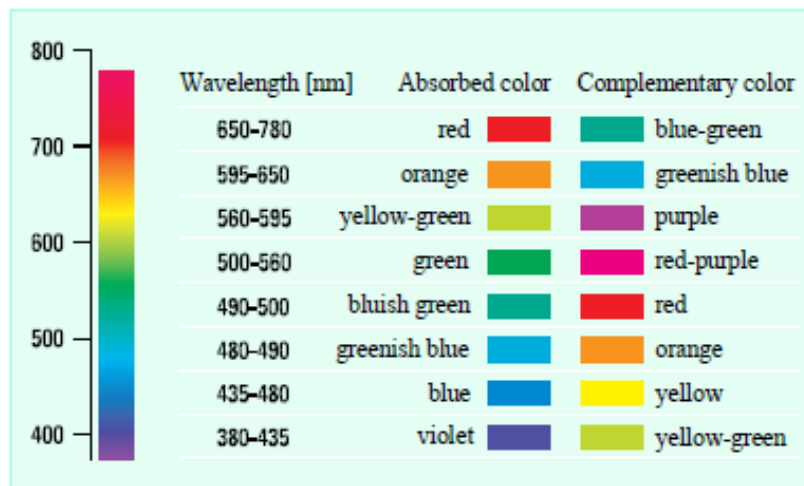
Untuk keseragaman bobot kapsul lunak dilakukan dengan cara menimbang dengan seksama 10 kapsul satu per satu, kemudian diberi identitas pada masing-masing kapsul. Dibuka kapsul dengan alat pemotong bersih, dikeluarkan isinya, lalu cangkang kapsul dibilas dengan pelarut yang sesuai. Dibiarkan sisa pelarut menguap dari cangkang kapsul pada suhu ruang dalam waktu ± 30 menit. Cangkang kapsul dilindungi terhadap penarikan atau kehilangan kelembaban. Ditimbang dengan seksama tiap cangkang kapsul kosong, kemudian dihitung bobot bersih isi tiap kapsul.

2.4 Tinjauan Spektrofotometer UV-Vis

2.4.1 Cara Kerja Spektrofotometer UV-Vis

Spektrofotometer UV-Vis biasa digunakan untuk analisa kimia kuantitatif maupun analisa kimia semi kualitatif. Metode ini secara umum berdasarkan pembentukan warna antara analit dengan pereaksi yang digunakan. Analisa dengan cara ini memiliki keuntungan sensitif atau kepekaan yang cukup tinggi, batas deteksinya rendah, dan relatif mudah dilakukan. Kelemahannya adalah perlu perlakuan awal untuk menghilangkan unsur-unsur pengganggu dan menggunakan beberapa macam bahan kimia sebagai pereaksi (Huda, 2001; Purwanto, 2012).

Sinar ultraviolet mempunyai panjang gelombang antara 200-400 nm (Gandjar dan Rohman, 2007), sementara sinar tampak mempunyai panjang gelombang 400-750 nm (Pavia dkk, 2009). Warna sinar tampak dapat dihubungkan dengan panjang gelombangnya. Warna-warna tersebut dapat dilihat pada gambar berikut ini:



Gambar 2.4 Hubungan Antara Warna dengan Panjang Gelombang Sinar Tampak (Owen, 1996)

Dasar pengukuran spektrofotometer menggunakan Hukum Lambert dan Hukum Lambert-Beer. Menurut Hukum Lambert, serapan berbanding lurus terhadap ketebalan sel yang disinari. Sedangkan menurut Hukum Beer, yang hanya berlaku untuk cahaya monokromatik dan larutan yang sangat encer, serapan berbanding lurus dengan konsentrasi (banyak molekul zat). Kedua pernyataan ini dapat dijadikan satu dalam Hukum Lambert-Beer, sehingga diperoleh bahwa serapan berbanding lurus terhadap konsentrasi dan ketebalan sel. Jadi dengan Hukum Lambert-Beer konsentrasi dapat dihitung dari ketebalan sel dan serapan, yang dapat ditulis dalam persamaan:

$$A = a.b.c \text{ atau } A = -\log T = -\log I_t/I_0 = \epsilon . b . c$$

Dimana:

A = absorban / serapan (tanpa dimensi)

a = absorptivitas ($\text{g}^{-1} \text{cm}^{-1}$)

b = tebal kuvet (cm)

c = konsentrasi (g.L^{-1} untuk rumus $A = a.b.c$ atau gram/100 mL untuk rumus

$$A = \epsilon . b . c)$$

I_0 = Intensitas sinar yang diserap

I_t = Intensitas sinar yang diteruskan

ϵ = absorptivitas molar ($\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ atau liter.mol⁻¹cm⁻¹)

Kuantitas spektroskopi yang diukur biasanya adalah transmitans (T) = I/I_0 , dan absorbansi (A) = $\log 1/T$. Absorptivitas (a) merupakan konstanta atau suatu tetapan dan spesifik untuk setiap molekul pada panjang gelombang dan pelarut tertentu. Absorptivitas tidak tergantung pada konsentrasi, tebal kuvet, dan intensitas radiasi yang mengenai larutan sampel, melainkan tergantung pada suhu, pelarut, struktur molekul, dan panjang gelombang radiasi. Satuan a ditentukan oleh satuan-satuan b dan c . Jika satuan c dalam molar (M) maka absorptivitasnya disebut dengan absorptivitas molar dan disimbolkan dengan ϵ dengan satuan $M^{-1}cm^{-1}$ atau liter.mol⁻¹cm⁻¹. Jika c dinyatakan dengan persen berat/volume (g/100 mL) maka absorptivitas dapat ditulis dengan $E^{1\%1cm}$ atau $A^{1\%1cm}$ (Gandjar dan Rohman, 2007; Watson 1999).

Ada beberapa hal yang perlu diperhatikan dalam analisis spektrofotometri UV-Vis terutama untuk senyawa yang semula tidak berwarna yang akan dianalisis dengan spektrofotometri visible karena senyawa tersebut harus diubah terlebih dahulu menjadi senyawa yang berwarna. Tahapan-tahapan yang harus diperhatikan yaitu (Gandjar dan Rohman, 2007):

a. Pembentukan molekul yang dapat menyerap sinar UV-Vis

Hal ini perlu dilakukan jika senyawa yang dianalisis tidak menyerap pada daerah tersebut. Caranya yaitu dengan mengubah senyawa tersebut menjadi senyawa lain atau direaksikan dengan pereaksi tertentu. Pereaksi yang digunakan harus memenuhi beberapa persyaratan yaitu: reaksinya selektif dan sensitif; reaksinya cepat, kuantitatif, dan reproduibel; dan hasil reaksi stabil dalam jangka waktu yang lama.

b. Waktu operasional (*operating time*)

Cara ini biasa digunakan untuk pengukuran hasil reaksi atau pembentukan warna. Tujuannya untuk mengetahui waktu pengukuran yang stabil. Waktu operasional ditentukan dengan mengukur hubungan antara waktu pengukuran dengan absorbansi larutan.

c. Pemilihan panjang gelombang maksimum

Panjang gelombang yang digunakan untuk analisis kualitatif yaitu panjang gelombang dimana terjadi serapan maksimum. Untuk memperoleh panjang gelombang serapan maksimum dilakukan dengan membuat kurva hubungan antara

absorbansi dengan panjang gelombang dari suatu larutan baku pada konsentrasi tertentu.

d. Pembuatan kurva baku

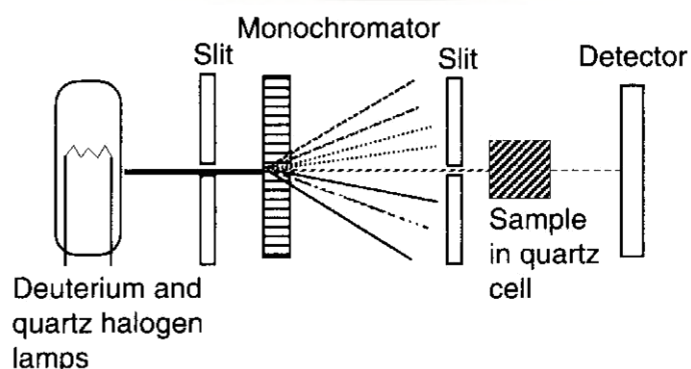
Dibuat seri larutan baku dari zat yang akan dianalisis dengan berbagai konsentrasi. Kemudian diukur absorbansi dari masing-masing larutan dengan berbagai konsentrasi tersebut, dan dibuat kurva yang merupakan hubungan antara absorbansi (Y) dengan konsentrasi (X). Bila hukum Lambert-Beer terpenuhi maka kurva baku berupa garis lurus. Kemiringan atau *slope* adalah a (absorptivitas) atau (absorptivitas molar). Penyimpangan dari garis lurus biasanya dapat disebabkan oleh kekuatan ion yang tinggi, perubahan suhu, dan reaksi ikatan yang terjadi.

e. Pembacaan absorbansi sampel

Absorban jika dibaca sebagai transmitans pada spektrofotometer hendaknya antara 0,2-0,8 atau 15%-70%. Anjuran ini berdasarkan anggapan bahwa kesalahan dalam pembacaan T adalah 0,005 atau 0,5% (kesalahan fotometrik).

2.4.2 Instrumentasi Spektrofotometer UV-Vis

Spektrofotometer yang sesuai untuk pengukuran didaerah spektrum ultraviolet dan sinar tampak terdiri atas suatu sistem optik dengan kemampuan menghasilkan sinar monokromatis dalam jangkauan panjang gelombang 200-800 nm. Spektrofotometer UV-Vis memiliki komponen berupa sumber-sumber sinar, monokromator, dan sistem optik (Watson, 1999).



Gambar 2.5 Diagram Skematis Spektrofotometer UV-Vis (Watson, 1999)

a. Sumber

Sumber-sumber lampu yang terdapat pada spektrofotometer UV-Vis adalah lampu deuterium dan lampu halogen. Lampu deuterium digunakan untuk daerah UV pada panjang gelombang 190-350nm, sementara lampu halogen atau lampu tungsten digunakan untuk daerah visibel (pada panjang gelombang antara 350-900 nm).

b. Monokromator

Digunakan untuk mendispersikan sinar kedalam komponen-komponen panjang gelombangnya yang selanjutnya akan dipilih oleh celah (*slit*).

c. Optik-optik

Sistem optik pada spektrofotometer UV-Vis dapat didesain untuk memecah sumber sinar sehingga sumber sinar melewati 2 kompartemen. Pada spektrofotometer berkas ganda (*double beam*), suatu larutan blanko dapat digunakan dalam satu kompartemen untuk mengoreksi pembacaan atau spektrum sampel. Yang paling sering digunakan sebagai blanko dalam spektrofotometri adalah semua pelarut yang digunakan untuk melarutkan sampel atau pereaksi (Watson, 1999).

2.4.3 Kalibrasi instrumen

Agar spektrofotometer dapat memberikan hasil analisis dengan presisi dan akurasi yang baik, maka alat yang digunakan untuk pengukuran tersebut harus dikalibrasi. Kalibrasi dalam spektrofotometer UV-Vis dilakukan dengan menggunakan *blanko* (berisi pelarut murni yang digunakan dalam sampel) dengan kuvet yang sama, yaitu dengan cara mengatur nilai absorbansi = 0 dan nilai transmitansi = 100% (Tahir, 2008).

2.5 Penetapan Kadar Albumin dengan Spektrofotometer UV-Vis

Protein secara umum memiliki serapan maksimal pada 214 nm karena adanya ikatan peptida. Namun daerah ini banyak terganggu oleh adanya uap air dari udara sehingga pada prakteknya sulit dilakukan. Asam amino Tyrosine (Tyr/Y), Tryptophan (Trp/W), dan Phenylalanine (Phe/F) memiliki absorbansi pada sekitar 280 nm karena adanya cincin aromatik dalam strukturnya. Warburg-Christian

Method mengusulkan persamaan Groves, yaitu $[\text{protein}] \text{ (mg/mL)} = 1,55 A_{280} - 0,76 A_{260}$ untuk menghitung kadar protein, khususnya dengan mempertimbangkan kesalahan yang mungkin timbul karena serapan asam nukleat yang secara maksimal terjadi pada 260 nm (Purwanto, 2014).

